



نشریه تولید گیاهان زراعی  
جلد هشتم، شماره سوم، پاییز ۹۴  
۹۵-۱۱۴  
<http://ejcp.gau.ac.ir>



## اثر مصرف نیتروژن بر روی برخی شاخص‌های تحمل تنش کم آبی در جو بهاره

\*آرزو مولودی<sup>۱</sup>، علی عبادی<sup>۲</sup> و سدابه جهانبخش<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup>، <sup>۲</sup> و <sup>۳</sup> دانش‌آموخته کارشناسی ارشد زراعت، دانشیار و استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه محقق اردبیلی

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۱۱/۲۵؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۵/۲۳

### چکیده

**سابقه و هدف:** با توجه به نقش خشکی به عنوان مهمترین عامل محدودکننده محیطی برای محصولات کشاورزی و استفاده از نیتروژن به عنوان پر مصرف‌ترین عنصر غذایی در نظام زراعی، در این مطالعه به بررسی اثر مصرف نیتروژن بر روی برخی شاخص‌های تحمل تنش شامل تغییرات میزان کلروفیل کل، پروتئین کل، سطح برگ، فسفر و فعالیت آنزیم پراکسیداز تحت تنش کم آبی در جو بهاره پرداخته شد.

**مواد و روش‌ها:** آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در سال ۱۳۹۱ در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه محقق اردبیلی اجرا شد. تنش کم آبی در سه سطح ۳۵ درصد (تنش شدید)، ۶۰ درصد (تنش متوسط) و ۸۵ درصد (شاهد) ظرفیت مزرعه‌ای با روش وزنی (تیمارهای تنش کم آبی یک هفته بعد از مصرف اولین نوبت کود اعمال گردید) و نیتروژن به شکل اوره در سه سطح ۴۰، ۸۰ و ۱۲۰ کیلوگرم در هکتار (با احتساب دو میلیون کیلوگرم وزن هر هکتار در خاک) بر روی ژنوتیپ EBYTW-11 جو بهاره اعمال گردید.

**یافته‌ها:** نتایج نشان داد که با افزایش تنش کم آبی و تسریع پیری برگ‌ها<sup>۱</sup> میزان کلروفیل کل، پروتئین کل، فسفر، سطح برگ و عملکرد دانه کاهش پیدا کرد، در صورتی که میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز افزایش یافت. تنش شدید (۳۵ درصد ظرفیت زراعی) نسبت به تنش ملایم (۶۰ درصد ظرفیت زراعی) و شاهد (۸۵ درصد ظرفیت زراعی) بیشترین تأثیر را بر این شاخص‌ها نشان داد، به طوری که کمترین میزان صفات (به جز آنزیم پراکسیداز)

\*مسئول مکاتبه: [arezumovludi@yahoo.com](mailto:arezumovludi@yahoo.com)

1- Leaf senescence

### نشریه تولید گیاهان زراعی، جلد هشتم (۳)، ۱۳۹۴

در تنش شدید مشاهده شد. کاربرد نیتروژن به طور معنی داری در تمام سطوح تنش کم آبی میزان تحمل را بهبود بخشید. عملکرد دانه طی تنش شدید و مصرف ۴۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار نسبت به شاهد ۶ درصد کاهش یافت. مصرف نیتروژن طی تنش، کاهش شدیدتری در مقایسه با شرایط بدون تنش نشان داد، به طوری که در تنش شدید، مصرف ۱۲۰ درصد کیلوگرم نیتروژن در هکتار موجب کاهش ۶۹ درصد عملکرد شد.

**نتیجه گیری:** بررسی همبستگی بین صفات مورد مطالعه نشان داد که بین عملکرد دانه و سطح برگ، درصد پروتئین، کلروفیل کل و فسفر همبستگی مثبت و معنی داری وجود دارد و بیشترین همبستگی عملکرد به فسفر ( $r=0/944^{**}$ ) تعلق داشت. همبستگی بین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز و سایر صفات شامل درصد پروتئین، میزان فسفر، سطح برگ و کلروفیل کل منفی و معنی دار بود. به عبارت دیگر با کاهش میزان این صفات فعالیت آنزیم پراکسیداز در طی تنش کم آبی افزایش یافت. افزایش میزان تنش کم آبی باعث کاهش غلظت کلروفیل و سطح برگ شده و در نهایت منجر به کاهش عملکرد در گیاه می شود. یکی از آثار قابل مشاهده کاهش عملکرد در طی تنش کم آبی کاهش سطح برگها است. پیامدهای فیزیکی و مولکولی مانند تجزیه کلروپلاست، کاهش فتوسنتز و شکستن پروتئین نیز به وقوع می پیوندد.

**واژه های کلیدی:** پراکسیداز، پیری برگ، تنش کم آبی، جو بهاره، عملکرد دانه

## مقدمه

خشکی از رایج‌ترین تنش‌های محیطی و مهمترین عامل محدودکننده تولیدات کشاورزی بوده و رشد گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهد (۳۱). خشکی موجب تغییر در مسیر برخی از فرآیندهای متابولیک می‌گردد، این تغییرات می‌تواند گیاه را در مقابل تنش مقاوم سازد. در واقع سازش با خشکی به واکنش‌هایی نیاز دارد تا از طریق آن، فرآیندهای متابولیسمی اولیه ادامه پیدا کند و گیاه را برای مقابله با آن آماده کند، اما این سازش با کاهش رشد و نمو گیاهان همراه است (۴۲). به نظر می‌رسد که کاهش فتوسنتز، تحت تنش تاحدی بواسطه کاهش غلظت کلروفیل است. پسرکلی (۱۹۹۹) بیان می‌دارد که دوام فتوسنتز و حفظ کلروفیل برگ تحت شرایط تنش از جمله شاخص‌های فیزیولوژیکی مقاومت به تنش است (۳۳). در گیاهان زراعی گزارش‌هایی در رابطه با واکنش متفاوت کلروفیل به خشکی در ارقام حساس و مقاوم (۸) و یا عدم تأثیر تنش خشکی بر غلظت کلروفیل ارائه شده است (۲۲). یکی از اولین علائم تنش خشکی، انتقال فسفر از برگ‌های مسن به ساقه و بافت‌های مریستمی می‌باشد. انتقال نیتروژن تقریباً بلافاصله بعد از فسفر صورت می‌گیرد و این امر نشان‌دهنده وقوع هیدرولیز پروتئینی و تغییر در اعمال عادی سلول است. تنش آب می‌تواند با توزیع مواد غذایی در بذر نیز تداخل حاصل نماید و منجر به کیفیت نامناسب‌تر بذر شود. این موضوع در مورد سویا نشان داده شده است (۴۰). سینری و همکاران (۱۹۹۳) اعلام کردند که تنش کم‌آبی سبب هیدرولیز پروتئین‌های تیلاکوئیدی می‌شود (۴۴). تجزیه پروتئین‌های کلروپلاستی منبع با ارزشی برای اشکال قابل تحرک نیتروژن به محض ورود به شرایط تنش است (۲۵).

تغذیه مناسب تحت شرایط تنش می‌تواند تا حدی به گیاه در تحمل تنش‌های مختلف کمک کند (۱). نیتروژن یک عنصر تعیین‌کننده در تغذیه، رشد گیاه و عملکرد آن محسوب می‌شود، به طوری که میزان نیتروژن قابل دسترس برای گیاه می‌تواند میزان پروتئین دانه، محتوای کلروفیل برگ و اندازه و حجم پروتوپلاسم سلولی را افزایش دهد و همچنین سطح برگ و فعالیت فتوسنتزی را تحت تأثیر قرار دهد (۱۳). ولتون (۲۰۰۵) گزارش نمود که کمبود نیتروژن از طریق پائین آوردن LAI و نیز به هم خوردن سنتز و تخریب پروتئین، پیری زودرس برگ‌ها را سبب می‌گردد و به‌خصوص با اثر بر روی روبیسکو<sup>۱</sup> بر فرآیند فتوسنتز گیاه تأثیر منفی می‌گذارد (۴۸).

۱- کربوکسیلاز RUBP

مرحله پیری برگ از لحاظ ژنتیکی و فیزیولوژیک بسیار حائز اهمیت است. ژن‌های زیادی در این مرحله فعال می‌شوند و در عین حال برخی ژن‌ها نیز غیرفعال می‌گردند. از مشخصه‌های بارز پیری، روند تغییرات منظم و کنترل شده فعل و انفعالات فیزیولوژیک است. از جمله این رخدادها توقف فتوسنتز، تجزیه کلروپلاست، کاهش چشمگیر کلروفیل و تجزیه پروتئین‌ها و سایر مولکول‌های بزرگ حیاتی به منظور انتقال مواد به دانه است (۲۹). در گیاهان، اولین نشانه قابل مشاهده پیری، زرد شدن برگ و در نهایت خشک شدن و ریزش آن می‌باشد (۵). مرحله پیری به دلیل تغییر طول دوره رشد گیاه، یکی از عوامل تعیین کننده عملکرد در گیاهان می‌باشد (۱۶). از سال‌ها پیش تنش اکسایشی به‌عنوان یکی از عوامل مؤثر در آغاز پیری شناخته شده است. طبق این نظریه، دلیل اصلی کاهش توانایی سیستم‌های زیستی در زمان پیری، افزایش تخریب ماکرو مولکول‌ها به وسیله رادیکال‌های فعال اکسیژن می‌باشد (۲۶). از دیگر وقایع مهم در خلال پیری، افزایش سطح رادیکال‌های فعال اکسیژن است که به طبع آن ژن‌های پاداکسیدان نظیر کاتالاز، سوپر اکسید دیسموتاز و اسکوربیک پراکسیداز، افزایش نسخه برداری نشان می‌دهند (۲۸) اگر چه رادیکال‌های مزبور در غلظت‌های زیاد سمی و مخرب بوده و موجب خسارت به غشاء سلولی و پراکسیداسیون مولکول‌های حیاتی می‌گردند، ولی در غلظت‌های کمتر در بیان ژن‌ها ایفای نقش می‌نمایند (۱۲). نقش رادیکال سوپر اکسید در بیان ژن‌های دفاعی PR1 و PR5 گزارش شده است (۱۸) همچنین پراکسید هیدروژن با افزایش فعالیت مسیر متابولیک آنزیم MAP کیناز الگوی زمان‌بندی باز و بسته شدن روزنه‌ها را تعیین می‌کند (۳۰).

هدف از این پژوهش ارزیابی تغییرات خصوصیات فیزیولوژیک جو بهاره تحت شرایط تنش کم‌آبی و تأثیر کاربرد نیتروژن بر کاهش آسیب‌های ناشی از این تنش در گیاه جو بود.

### مواد و روش‌ها

این آزمایش در شرایط گلخانه‌ای به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام گرفت. فاکتورهای آزمایشی شامل تنش کم‌آبی در سه سطح ۳۵ درصد (تنش شدید)، ۶۰ درصد (تنش متوسط) و ۸۵ درصد (شاهد) ظرفیت مزرعه‌ای بر اساس روش وزنی<sup>۱</sup> اعمال شد و کود نیتروژنی (اوره) در سه مقدار ۴۰، ۸۰ و ۱۲۰ کیلوگرم در هکتار (با احتساب دو میلیون کیلوگرم وزن هر هکتار خاک) بود. در اجرای طرح از گلدان‌های ۱۰ کیلوگرمی با قطر دهانه ۲۵ سانتی‌متر و ارتفاع

1- Gravimetric

## آرزو مولودی و همکاران

۳۰ سانتی متر استفاده شد. بذور ژنوتیپ EBYTW-11 جو پس از ضدعفونی درون گلدان‌های حاوی خاک کاشته شد. کود نیتروژنی به فرم اوره در دو نوبت پس از سبز شدن و ابتدای گلدهی بر مبنای تیمارهای آزمایش محاسبه و اعمال شد. ظرفیت زراعی خاک به روش وزنی تعیین شد و تیمارهای کم‌آبی یک هفته بعد از مصرف اولین نوبت کود اعمال گردید (برای جلوگیری از تبخیر از سطح خاک، به سطح گلدان‌ها به ارتفاع سه سانتی متر پرلیت افزوده شد). میزان رطوبت گلدان‌ها با توجه به ظرفیت زراعی هر تیمار، از طریق توزین روزانه وزن حفظ گردید تا پیوسته در سطح تنش موردنظر رشد نمایند. مقدار سایر کودهای مورد استفاده بر اساس آزمون تجزیه خاک و نیاز کودی گیاه انتخاب شد، به طوری که برای هر گلدان ۷۶۰ میلی‌گرم سوپر فسفات و ۷۰۰ میلی‌گرم سولفات پتاسیم مصرف گردید (جدول ۱).

جدول ۱- مشخصات خاک مورد استفاده در آزمایش.

Table 1. Soil properties in experiment.

شوری (مسی زینس برقی) Salt (ds.m-1)	کربن آلی (درصد) Organic carbon (%)	نیتروژن (درصد) Nitrogen (%)	فسفر (پی پی ام) Phosphorous (ppm)	پتاسیم (پی پی ام) Potassium (ppm)	رس (درصد) Clay (%)	سیلت (درصد) Silt (%)	شن (درصد) Gravel (%)	بافت خاک Soil texture
0.62	0.62	0.06	8.50	170	12	14	64	لومی شنی Sandy loam

اندازه‌گیری پروتئین کل برگ: محلول استخراج پروتئین کل از برگ با استفاده از روش برادفورد و هاسیائو صورت پذیرفت (۶). ابتدا ۰/۱ گرم برگ را وزن کرده و در هاون چینی قرار داده و توسط نیتروژن مایع له شد، سپس با ۱ ml بافر استخراج مخلوط شده و درون لوله ۱/۵ ml پلاستیکی درپوش دار<sup>۱</sup> ویژه سانتریفیوژ ریخته و بلافاصله لوله‌ها داخل یخ گذاشته شدند. سپس نمونه‌ها با استفاده از سانتریفیوژ (۱۱۵۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد) به مدت ۲۱ دقیقه سانتریفیوژ شدند. قسمت بالایی برداشته شد و داخل لوله دیگر ریخته شد و رسوبات ته لوله بیرون ریخته شدند. لوله‌های جدید به مدت ۲۰ دقیقه در ۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. پس از انجام سانتریفیوژ، لوله‌ها در

## 1- Microtube

نشریه تولید گیاهان زراعی، جلد هشتم (۳)، ۱۳۹۴

داخل یخ قرار داده شدند. در این مرحله از قسمت محلول بالایی<sup>۱</sup> هر کدام از لوله‌ها (۷۰۰ µl) برداشته و داخل لوله‌های اپندورف ریخته و به سرعت به فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد منتقل شدند. این نمونه‌ها برای تعیین مقدار کمی پروتئین‌ها به روش برادفورد<sup>۲</sup> مورد استفاده قرار گرفتند. برای اندازه‌گیری میزان پروتئین موجود در نمونه‌های گیاهی توسط طیف‌سنج نوری باید در ابتدا محلولی از نمونه‌ها تهیه گردد. به این ترتیب که به تعداد نمونه‌ها فالکن‌ها را از محلول برادفورد به میزان ۵ ml و ۹۹۰ µl بافر استخراج پر کرده و در ادامه ۷ µl از عصاره‌های تهیه شده از نمونه‌ها را به فالکن اضافه کرده، این محلول توسط ورتکس خوب هم زده شد و سپس جهت تعیین میزان جذب در طیف‌سنج نوری قرار داده شد. پیش از قرائت نمونه‌ها، دستگاه توسط محلول شاهدی که حاوی ۱ ml بافر استخراج و ۵ ml محلول برادفورد بود، صفر شد.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پراکسیداز: نیز به روش کارو و میسرا (۱۹۷۶) انجام شد (۲۰)، به طوری که ۵۰ میکرولیتر عصاره پروتئینی را در ۲/۵ میلی‌لیتر بافر استخراج که شامل بافر تریس ۱۰۰ میلی‌مولار و آب اکسیژنه ۵ میلی‌مولار و پیروگالال ۱۰ میلی‌مولار بود در حمام یخ افزوده و منحنی جذب تغییرات در طول موج ۴۵۲ نانومتر قرائت شد.

محاسبه غلظت کلروفیل برگ: با استفاده از روش لیچنیندالیر و ولبرن (۱۹۸۳) انجام شد (۲۳). ۰/۱ گرم از بافت برگ را با استن ۸۰ درصد به تدریج له کرده تا کلروفیل وارد محلول استنی شود و در نهایت حجم محلول با استن ۸۰ درصد به حجم ۲/۵ میلی‌لیتر رسانده شد. محلول حاصل به مدت ۱۰ دقیقه در ۴۰۰ دور سانتریفوژ گردید و سپس جذب نوری محلول رویی در طول موج‌های ۴۷۰، ۶۴۶/۸ و ۶۶۳/۲ نانومتر توسط طیف‌سنج نوری قرائت شد. مقدار کلروفیل طبق معادله زیر محاسبه شد.

$$\text{Chl}_a = 12.25 a_{663.2} - 2.798 a_{646.8} \quad (1)$$

$$\text{Chl}_b = 21.50 a_{646.8} - 5.10 a_{663.2} \quad (2)$$

$$C_{\text{Total}} = C_a + C_b \quad (3)$$

اندازه‌گیری فسفر: در نمونه‌های گیاهی به روش چاپمن و پرات (۱۹۸۹)، و قرائت توسط دستگاه طیف‌سنج نوری انجام شد. به این منظور ۰/۵ گرم از خاکستر حاصل از نمونه‌های گیاهی با ۵ میلی‌لیتر

1- Supernatant

2- Bradford assay

اسید کلریدریک ۲ نرمال مخلوط و بعد از ۱۵ تا ۲۰ دقیقه با استفاده از آب دیونیزه به حجم ۵۰ میلی‌لیتر رسانده شد. پس از ۳۰ دقیقه با کاغذ صافی صاف گردید. جهت سنجش غلظت فسفر نمونه‌ها، ۵ میلی‌لیتر از محلول هضم‌شده گیاهی با ۵ میلی‌لیتر معرف بارتن (آمونیم مولیبدات + آمونیوم وانادات + اسید نیتریک + آب مقطر) در بالن ژوژه‌ی ۵۰ میلی‌لیتری ریخته و به‌خوبی مخلوط شد تا رنگ زرد ظاهر شود. سپس با استفاده از آب مقطر بالن را به حجم رسانده و محلول حاصل به مدت ۳۰ دقیقه به حال خود رها گردید. پس از آن جذب نمونه در طول موج ۴۷۰ نانومتر توسط دستگاه طیف‌سنج نوری قرائت گردید. سپس عدد قرائت شده توسط منحنی استاندارد فسفر به میکروگرم بر گرم تبدیل و در نهایت مقدار فسفر گیاه محاسبه شد.

**اندازه‌گیری شاخص سطح برگ:** میزان سطح برگ در دو مرحله گلدهی و رسیدگی فیزیولوژیک با استفاده از دستگاه Leaf Area Meter اندازه‌گیری شد. نکته مهم این‌که برای محاسبه سطح برگ می‌بایست برگ‌های خشک، بیمار و آفت‌زده از نمونه برگ کل قبل از تعیین جدا شوند. برای تجزیه آماری داده‌ها از نرم‌افزار SAS و از آزمون LSD برای مقایسه میانگین‌ها در سطح احتمال ۵ درصد استفاده شد.

### نتایج و بحث

**میزان پروتئین برگ:** میزان پروتئین برگ تحت تأثیر تنش کم‌آبی قرار گرفت (۱ درصد  $\alpha=$ ، جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین نشان داد که با افزایش شدت تنش کم‌آبی میزان پروتئین برگ کاهش پیدا کرد به نحوی که بین سه تیمار تفاوت معنی‌داری مشاهده گردید (شکل ۱-الف). نتایج همچنین نشان داد که میزان پروتئین برگ تحت تأثیر مصرف نیتروژن قرار گرفت (۱ درصد  $\alpha=$ ، جدول ۲) به نحوی که بین تیمارهای ۴۰ و ۸۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار تفاوت معنی‌داری مشاهده نگردید ولی با افزایش مصرف کود در تیمار ۱۲۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار میزان پروتئین برگ افزایش پیدا کرد (شکل ۱-ب). تجزیه پروتئین‌های کلروپلاستی، منبع با ارزشی برای اشکال قابل تحرک نیتروژن به محض ورود به شرایط تنش است (۲۷). کرلمن و همکاران (۱۹۹۰) رکود سنتز پروتئین را به کاهش تعداد پلی‌زوم‌های سلولی نسبت داده‌اند (۱۱). پژوهش‌های متعددی نیز در مورد تأثیر کاهش پتانسیل آبی خاک بر روی پروتئین و رنگیزه‌های موجود در کلروپلاست صورت گرفته است. به‌عنوان مثال، تنش کم‌آبی سبب هیدرولیز پروتئین‌های تیلاکوئیدی می‌شود (۱۰ و ۴۴). به‌نظر می‌رسد با وقوع تنش کم‌آبی در گیاه و تسریع پیری برگ میزان رادیکال‌های فعال اکسیژن در کلروپلاست افزایش می‌یابد (۲۷)، بنابراین هم در اثر پیری و هم در اثر تنش کم‌آبی تخریب پروتئین‌ها افزایش می‌یابد (۳۴).

نشریه تولید گیاهان زراعی، جلد هشتم (۳)، ۱۳۹۴

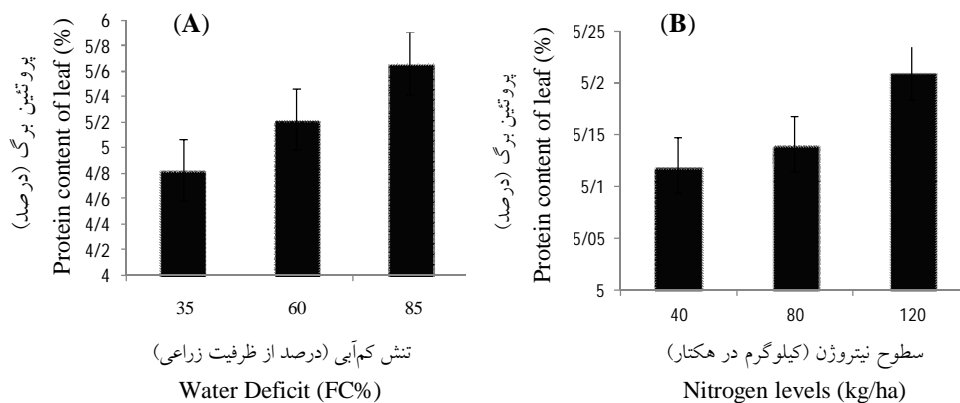
جدول ۲- تجزیه واریانس تأثیر مصرف کود نیتروژن بر روی برخی صفات مورد بررسی در شرایط کم آبی  
 Table 2. Analysis of variance on some studied traits under water deficit and nitrogen fertilizer use

عملکرد دانه Grain yield	سطح برگ Leaf area		پراکسیداز Peroxidase	فسفر Phosphorus	درصد پروتئین Protein content	کلروفیل کل Total Chlorophyll	کلروفیل b Chlorophyll b	کلروفیل a Chlorophyll a	درجه آزادی df	منابع تغییرات (Source of Variation)
	مرحله رسیدگی Maturity stage	مرحله گلدهی Flower stage								
1.59*	28.2**	155.9**	0.062**	0.68*	0.060**	1.59**	0.304**	0.503**	2	خشکی Water stress
0.16*	176.2*	224.9**	0.011**	0.63*	0.020**	0.02**	0.096**	0.072**	2	نیتروژن Nitrogen
0.04**	47.5**	12.7*	0.003**	0.29 <sup>ns</sup>	0.001 <sup>ns</sup>	0.03**	0.015**	0.014**	4	خشکی*نیتروژن (S×N)
0.01	4.7	3.30	0.006	0.11	0.001	0.06	0.003	0.002	18	خطا (Error)
14.31	5.1	2.90	13.02	21.20	0.610	3.02	8.91	2.60	-	ضریب تغییرات CV (درصد)

\* و \*\* به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد

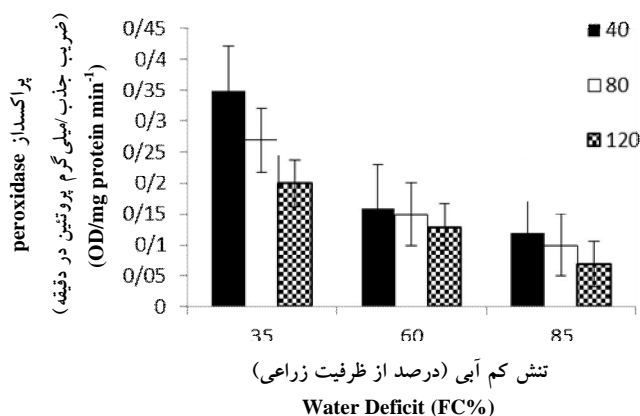
\* and \*\* significant at 5% and 1% probability levels, respectively.





شکل ۱- اثر تنش کم‌آبی (A) و سطوح نیتروژن (B) بر درصد پروتئین برگ جو (آزمون LSD بر سطح احتمال ۵ درصد)  
 Figure 1. Effect of water deficit (A) and levels of nitrogen (B) on protein content in leaf of barley ( $P \leq 0.05$ ) based on LSD test.

فعالیت آنزیم پراکسیداز: با افزایش تنش کم‌آبی و مصرف نیتروژن، میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز افزایش یافت (جدول ۲)، به نحوی که بین سطوح تیمارها تفاوت معنی‌داری مشاهده گردید و بیشترین میزان آن در تنش شدید با مصرف کود ۴۰ کیلوگرم در هکتار به دست آمد (شکل ۲). در تمام سطوح تنش کم‌آبی، مصرف نیتروژن نیاز به تولید آنزیم پراکسیداز را نیز کاهش داده است. سیمیرنوف و کولومب (۲۰۰۰) گزارش کردند که در جو تحت تنش خشکی فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز، کاتالاز و نیز سوپراکسید دسموتاز تحت شرایط خشکی افزایش یافت (۳۹) که این نتایج با گزارش‌های جانگ (۲۰۰۴) در مورد فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت تحت تنش خشکی در گیاه آرابیدوپسیس (۱۹) و بایی و سویی (۲۰۰۶) در مورد تأثیر تنش خشکی بر روی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در ذرت مطابقت دارد (۴). به نظر می‌رسد زمانی که گیاه در معرض تنش‌های اکساینده قرار می‌گیرد، سلول‌های گیاهی با افزایش توانایی سیستم دفاعی ضد اکساینده تلاش می‌کنند تا با تنش اکساینده مقابله کنند. اما زمانی که پاسخ سلول به تنش کافی نباشد، سلول و در نتیجه گیاه به سمت مرگ هدایت می‌شود. چنین نتیجه‌ای قبلاً نیز گزارش شده است (۴۳). در این آزمایش، فعالیت آنزیم پراکسیداز در اثر پیری ناشی از تنش خشکی افزایش پیدا کرد. از آنجایی که فعالیت ویژه آنزیم نشان‌دهنده فراوانی نسبی پروتئین می‌باشد، این امر می‌تواند ناشی از افزایش بیان ژن‌های کدکننده آنزیم پراکسیداز و یا این که پایداری مولکول‌های پروتئینی این آنزیم در مقابل تخریب اکساینده ناشی از شرایط پیری سلول باشد. اما نتیجه‌گیری قطعی درباره این موضوع نیاز به تحقیقات بیشتر در این زمینه دارد.

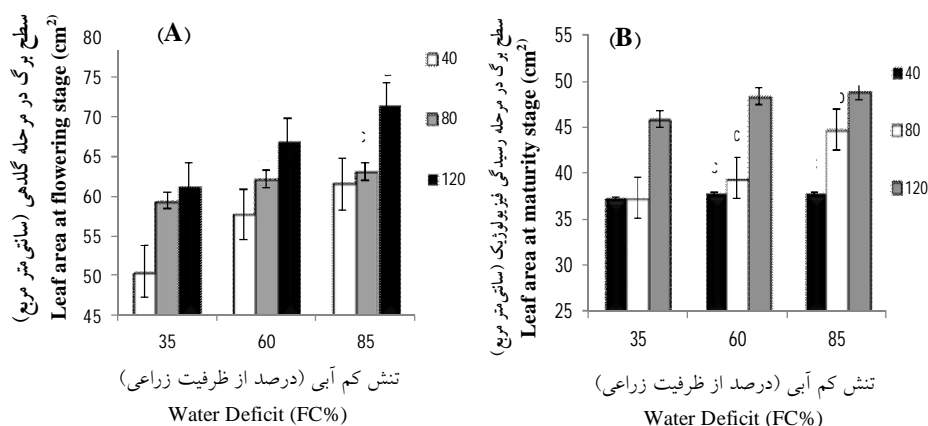


شکل ۲- اثرات برهمکنش تنش کم آبی و نیتروژن بر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در برگ جو (آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد).

Figure 2. Interaction effects of water deficit and nitrogen on peroxidase enzyme activity in leaf of barley ( $P \leq 0.05$ ) based on LSD test.

**سطح برگ:** میزان سطح برگ در دو مرحله گلدهی و رسیدگی فیزیولوژیک اندازه گیری شد. اثر متقابل مصرف نیتروژن و تنش کم آبی در هر دو مرحله (گلدهی، ۵ درصد  $\alpha$  و رسیدگی، ۱ درصد  $\alpha$ ) معنی دار بود (جدول ۲). مقایسه میانگین مشخص کرد که میزان سطح برگ با افزایش سطح تنش کم آبی در هر دو مرحله گلدهی (شکل ۳- الف) و رسیدگی فیزیولوژیک (شکل ۳- ب) روند کاهشی نشان داد به طوری که کمترین مقدار آن در تنش شدید و مصرف ۴۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار به دست آمد. میزان سطح برگ نشان دهنده رشد برگ می باشد بنابراین کاهش میزان آن در شرایط تنش کم آبی به دلیل کاهش کارایی فتوسنتز است. در مرحله رسیدگی نیز مصرف ۱۲۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار توانسته سطح برگ را در تنش شدید به اندازه تیمارهای تنش متوسط و بدون تنش حفظ کند. رشد برگ اولین فرآیندی است که به کمبود آب واکنش نشان می دهد و در نتیجه سطح برگ در گیاه کاهش می یابد (۳۲). کمبود آب با کاهش آماس سلولی، رشد و تقسیم سلولها را تحت تأثیر قرار داده و در نتیجه تعداد و سطح برگ و ارتفاع ساقه در گیاه کاهش پیدا می کند (۱۴). پژوهشهای متعددی نشان داده است که تنش خشکی از طریق کاهش سطح برگها و اختلال در روند جذب و انتقال عناصر غذایی، عرضه مواد پرورده را کاهش داده و موجب کاهش عملکرد دانه می شود (۳۷). هنگامی که در تغذیه گیاهان، نیتروژن و نوع آن مناسب باشد، ساخت مواد پروتئینی شدت یافته، رشد گیاه

تسریع و پیری آن‌ها کند می‌شود (۴۶). به‌نظر می‌رسد تنش خشکی ضمن کاهش سطح برگ‌ها، پیری آن‌ها را تسریع نموده و بدین وسیله می‌تواند میزان تولید گیاه را بسیار بیشتر از آنچه که به‌علت اثرات ناشی از کاهش شدت فتوسنتز خالص تقلیل می‌یابد، کاهش دهد و در نتیجه گیاه عملکرد کمتری به دلیل کاهش سطح فتوسنتزی و به دنبال آن کاهش مواد و منابع فتوسنتزی تولید می‌کند.



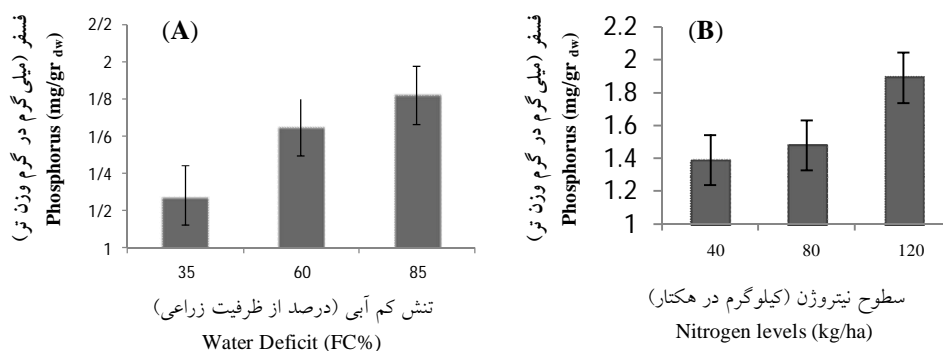
شکل ۳- اثرات برهمکنش تنش کم‌آبی و نیتروژن بر سطح برگ جو در مرحله گلدهی (A) و مرحله رسیدگی فیزیولوژیک (B)، (آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد).

Figure 3. Interaction effects of water deficit and nitrogen on leaf area at flowering stage (A) and maturity stage (B) of barley ( $P \leq 0.05$ ) based on LSD test.

میزان فسفر: با افزایش میزان مصرف نیتروژن، فسفر نیز به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (۵ درصد  $\alpha =$  جدول ۲). از نظر میزان فسفر بین تیمارهای ۴۰ و ۸۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار تفاوت معنی‌داری مشاهده نگردید. ولی با افزایش مصرف نیتروژن میزان فسفر در تیمار ۱۲۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار به‌طور معنی‌داری افزایش پیدا کرد (شکل ۴- الف). نتایج همچنین نشان داد که تنش کم‌آبی نیز بر مقدار فسفر تأثیرگذار بود (۵ درصد  $\alpha =$  جدول ۲)، به طوری‌که بیشترین آن در شاهد به‌دست آمد و بین تیمارهای تنش شدید و متوسط تفاوت معنی‌داری مشاهده نگردید (شکل ۴- ب). بر اساس نتایج به‌دست آمده، با افزایش مصرف نیتروژن میزان جذب فسفر در جو افزایش یافت. در شرایط تنش خشکی، کاهش سرعت انتشار فسفر از خاک به سطح ریشه نسبت به سایر عناصر غذایی بیشتر است، به علت این‌که یون فسفات به ذرات رس چسبیده و کمتر در دسترس ریشه گیاه قرار می‌گیرد. بررسی‌ها

## نشریه تولید گیاهان زراعی، جلد هشتم (۳)، ۱۳۹۴

در مورد گیاه سویا در شرایط تنش خشکی نشان داده است که توانایی جذب فسفر توسط ریشه‌های این گیاه ضعیف می‌باشد، دلیل این موضوع کاهش قابلیت تحرک فسفر در خاک‌هایی با محتوای پایین آب است، به علت اینکه محتوای آب خاک بر واکنش‌های تجزیه‌ای و فعالیت‌های زیستی آن تأثیرگذار است (۲۴). استیون (۱۹۹۹) اثر تغذیه‌ای فسفر بر روی پیری برگ‌ها در سویا را بررسی کرد و به این نتیجه رسید که انتقال مواد معدنی از برگ‌ها برای بازساخت ساختمان گیاه یک نقش تنظیمی در پیری برگ‌ها دارد و این یک فرض است که کمبود فسفر به پیری برگ‌ها سرعت می‌بخشد و مقدار مناسب فسفر می‌تواند زمان و سرعت پیری برگ را به تأخیر بیندازد و با میزان مناسب فسفر در خاک، می‌توان فسفر درون شیره برگ‌ها را افزایش داد (۴۱).



شکل ۴- اثر تنش کم‌آبی (الف) و اثر سطوح نیتروژن (ب) بر میزان فسفر برگ جو (آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد).

Figure 4. Effect of water deficit (A) and levels of nitrogen (B) on phosphorus in leaf of barley ( $P \leq 0.05$ ) based on LSD test.

مقدار کلروفیل کل: بر اساس نتایج این آزمایش، اثر تنش کم‌آبی و مصرف نیتروژن بر کلروفیل a و b و کل در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). نتایج نشان داد که در سطوح مختلف تنش خشکی و نیتروژن، میزان کلروفیل a روند کاهشی داشت به طوری که بیشترین میزان این شاخص در شاهد و سطح اول نیتروژن و کمترین میزان آن در تنش شدید و سطح اول نیتروژن مشاهده شد (شکل ۵-الف)، همچنین طی تنش، میزان کلروفیل b و کل تغییر پیدا کرد، به طوری که طی تنش، میزان کلروفیل a و b و کل در تنش شدید به ترتیب ۵/۶ درصد، ۲/۲ درصد و ۴/۹ درصد در تنش متوسط

به ترتیب ۲۶ درصد، ۴۶ درصد و ۳۲ درصد کاهش پیدا کرد و مصرف نیتروژن موجب کند شدن این تغییرات شد، به طوری که مصرف ۸۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار باعث شد طی تنش متوسط، میزان کلروفیل a، b و کلروفیل کل به ترتیب ۳/۴ درصد، ۲۵ درصد و ۱۰ درصد کاهش نشان دهد و طی تنش شدید، کلروفیل a، ۱/۲ درصد افزایش و کلروفیل b و کل به ترتیب ۱۶ درصد و ۲/۹ درصد کاهش یافت (شکل ۵- ب و ج).

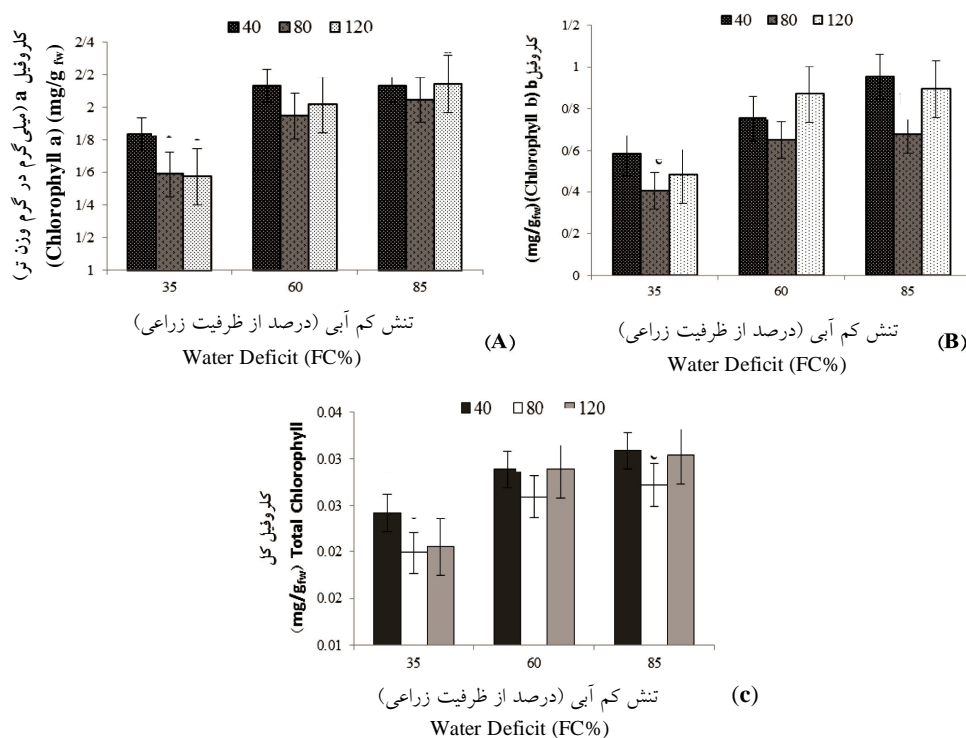
تنش خشکی باعث تولید اکسیژن فعال و ایجاد اختلال در سیستم‌های آنزیمی کاهش دهنده فعالیت اکسیژن فعال و افزایش پراکسیداسیون چربی‌ها و خسارت به غشای سلولی موجب تخریب رنگدانه‌ها و کاهش غلظت کلروفیل a و b می‌شود (۳۱). افزایش میزان تنش، موجب کاهش پایداری و دوام هرچه بیشتر رنگیزه‌ها و خسارت بیشتر به ساختمان کلروفیل a و b شده است. در پژوهش‌های آنجوم و همکاران (۲۰۰۳) در جو، تنش خشکی موجب کاهش میزان کلروفیل b شد (۲). به نظر می‌رسد یکی از اثرات مهم تنش کم‌آبی روی گیاه پیری برگ می‌باشد و عامل مهم در این میان کاهش میزان کلروفیل تحت تنش کم‌آبی می‌باشد. کاهش کلروفیل در اثر پیری یکی از مهمترین شاخص‌های تشخیص پیری در گیاهان می‌باشد (۱۷). پیری برگ به‌عنوان بخش مهمی از مراحل رشد و توسعه گیاه است (۳۶). از آثار قابل مشاهده پیری برگ، کاهش کلروفیل، خشک شدن و ریزش احتمالی برگ‌ها است. پیامدهای فیزیکی و مولکولی مانند تجزیه کلروپلاست، کاهش فتوسنتز، شکستن پروتئین و فقدان اسید نوکلئیک در طی پیری برگ اتفاق می‌افتد (۷). از علائم پیری برگ، شکسته شدن کلروپلاست‌ها، تخریب کلروفیل کل و به‌طور معمول پایین آمدن نسبت کلروفیل a/b است (۴۵).

**عملکرد دانه:** تأثیر تنش کم‌آبی و مصرف نیتروژن بر عملکرد دانه معنی‌دار بود (۱ درصد  $\alpha$ ، جدول ۲). عملکرد دانه طی تنش شدید و مصرف ۴۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار نسبت به شاهد ۶۶ درصد کاهش یافت. مصرف نیتروژن طی تنش، کاهش شدیدتری در مقایسه با شرایط بدون تنش نشان داد، به طوری که در تنش شدید، مصرف ۱۲۰ کیلوگرم در هکتار موجب کاهش ۶۹ درصد عملکرد شد. نتایج نشان داد بیشترین عملکرد دانه (۱/۵۳ گرم در بوته) در شاهد با مصرف ۱۲۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار و کمترین میزان آن (۰/۳۴۱ گرم در بوته) در تنش شدید و مصرف ۴۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار به‌دست آمد (شکل ۶). به نظر می‌رسد وقوع تنش بر اجزای عملکرد تأثیر می‌گذارد، به طوری که در مرحله برجستگی دوگانه سبب کاهش سنبلچه، در مرحله قبل گلدهی کاهش تعداد گلچه، و در

## 1- Yellowing

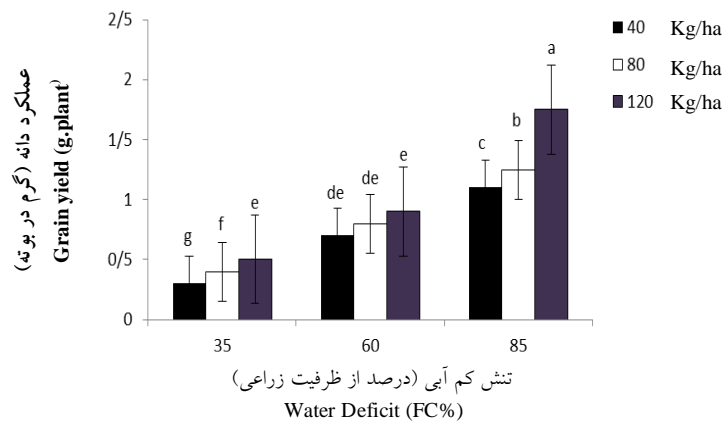
## نشریه تولید گیاهان زراعی، جلد هشتم (۳)، ۱۳۹۴

مرحله گلدهی باعث افزایش سقط گل‌ها، در نهایت کاهش تعداد مخزن<sup>۱</sup> و وزن هزار دانه در مرحله رسیدگی می‌شود (۳۵). در بسیاری از گیاهان زراعی، اجتناب از تنش خشکی آخر فصل به‌عنوان یک راهبرد اکولوژیک مطرح است. بدیهی است در این شرایط گیاه از طریق تسریع در مراحل فنولوژیک، قبل از وقوع تنش و مواجهه با خشکی، چرخه زندگی خود را تکمیل کرده و به نوعی از خشکی فرار می‌کند که به کاهش عملکرد منجر می‌شود (۴۷). تنش ناشی از افزایش فواصل آبیاری، به‌خصوص در مرحله زایشی، منجر به کاهش ظرفیت مخزن در گیاه شده و در نتیجه افت شدید عملکرد دانه را سبب می‌گردد (۳).



شکل ۵- اثرات برهمکنش تنش کم آبی و نیتروژن بر میزان کلروفیل a (الف)، (ب) و کل (ج) در برگ جو (آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد)

Figure 5. Interaction effects of water deficit and nitrogen on chlorophyll a (A), chlorophyll b (B) and total chlorophyll (C) of barley ( $P \leq 0.05$ ) based on LSD test.



شکل ۶- اثرات برهمکنش تنش کم آبی و نیتروژن بر عملکرد دانه جو (آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد)

Figure 6. Interaction effects of water deficit and nitrogen on grain yield of barley ( $P \leq 0.05$ ) based on LSD test.

به نظر می‌رسد با افزایش تنش کم آبی و تولید رادیکال‌های سوپراکسید (۲۱)، کلروفیل و پروتئین (۴۳) دچار تخریب شده و به موجب آن برگ‌ها به سرعت پیر می‌شوند (۱۵). به تبع آن در چنین شرایطی، گیاه در مقابل تخریب اکسایشی ناشی از شرایط پیری سلول، فعالیت برخی از آنزیم‌ها مانند پراکسیداز را افزایش می‌دهد (۳۸).

در این پژوهش همبستگی بین صفات اندازه‌گیری شده شامل میزان کلروفیل کل، درصد پروتئین، میزان فسفر، سطح برگ، میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز و عملکرد دانه با یکدیگر بررسی گردید (جدول ۳). همبستگی بین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز و سایر صفات شامل درصد پروتئین، میزان فسفر، سطح برگ و کلروفیل کل منفی و معنی‌دار بود. به عبارت دیگر با کاهش میزان این صفات فعالیت آنزیم پراکسیداز در طی تنش کم آبی افزایش یافت. علی‌رغم این‌که در مراحل پیری توانایی محافظتی سلول در مقابل رادیکال‌های فعال اکسیژن کاهش می‌یابد و سلول دچار تنش اکسایشی می‌شود به نحوی که فعالیت‌های طبیعی سلول و به دنبال آن ماکرومولکول‌های سلول از جمله پروتئین‌ها از بین می‌روند (۴۳). فعالیت ویژه آنزیم پراکسیداز بر خلاف سایر صفات افزایش می‌یابد. نتایج نشان داد همبستگی بین عملکرد دانه با سایر صفات (به جز میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز) مثبت و معنی‌دار بود. به عبارت دیگر میزان این صفات با افزایش تنش کم آبی، روند کاهشی داشت. افزایش میزان تنش کم آبی باعث کاهش غلظت کلروفیل و سطح برگ شده و در نهایت منجر به کاهش عملکرد در گیاه می‌شود.

## نشریه تولید گیاهان زراعی، جلد هشتم (۳)، ۱۳۹۴

جدول ۳- تجزیه همبستگی صفات مورد بررسی تحت تنش کم آبی و مصرف کود نیتروژن.

Table 3. Correlation analysis of studied traits under water deficit and nitrogen fertilizer use

صفات (Traits)	سطح برگ Leaf area (cm <sup>2</sup> )	درصد پروتئین Protein content (%)	کلروفیل کل Total Chlorophyll (mg/g <sub>fw</sub> )	پراکسیداز Peroxidase (OD/mg protein min <sup>-1</sup> )	فسفر Phosphorus (mg/g <sub>dw</sub> )	عملکرد دانه Grain yield (g.plant)
سطح برگ (Leaf area)	1					
درصد پروتئین (Protein content)	0.817**	1				
کلروفیل کل (Total Chlorophylls)	0.919**	0.798**	1			
پراکسیداز (Peroxidase)	-0.526*	-0.794**	-0.403	1		
فسفر (Phosphorus)	0.846*	0.905**	0.904**	-0.628	1	
عملکرد دانه (Grain yield)	0.888**	0.800**	0.903**	-0.878**	0.994*	1

\* و \*\* به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد.

\* and \*\* significant at 5% and 1% probability levels, respectively.

## نتیجه گیری کلی:

از آثار قابل مشاهده کاهش عملکرد در طی تنش کم آبی، کاهش کلروفیل، کاهش سطح برگها است. پیامدهای فیزیکی و مولکولی مانند تجزیه کلروپلاست، کاهش فتوسنتز، شکستن پروتئین نیز به وقوع می پیوندد.

## منابع

1. Alloway, B.J. 2004. Zinc in Soils and Crop Nutrition. Int. Zinc Assoc. (IZA), Belgium, 128p.
2. Anjum, F., Yaseen, M., Rasool, E., Wahid, A., and Anjum, S. 2003. Water stress in barley (*Hordeum vulgare* L.) II. Effect on chemical composition and chlorophyll contents. Pak. J. Agr. Sci. 40(1-2): 41-49.
3. Ardakani, M.R., Abbaszadeh, B., Sharifi Ashourabadi, E., Lebaschi, M.H., and Paknejad, F. 2007. The effect of water deficit on quantitative and qualitative characters of balm (*Melissa officinalis* L). Iran. J. Medicin. Aromatic Plants. 23: 251-261. (In Persian)
4. Bai, L.P., and Sui, F.G. 2006. Effect of soil drought stress on leaf water status, membrane permeability and enzymatic antioxidant system of maize. Pedosphere. J. 16: 326-332.
5. Bishop, D.L., and Bughee, B.G. 1998. Photosynthetic capacity and dry mass partitioning in dwarf and semi- dwarf wheat's. J. Plant Physio. 153: 558-565.



6. Bradford, K.J., and Hsiao, T.C. 1982. Physiological responses to moderate water stress. In: *physiol. Plant Ecol.* 42: 381–399.
7. Buchanan-Wollaston, V. 1997. The molecular biology of leaf senescence. *J. Exp. Bot.* 48: 181–199.
8. Castrillo, M., and Calcargo, A.M. 1989. Effects of water stress and rewatering on ribulose–I, 5-bisphosphate carboxylase activity, chlorophyll and protein contents in two cultivars of tomato. *J. Hortic. Sci.* 64 (6): 717–724.
9. Chapman, H.D., and Pratt, F.P. 1961. Ammonium vandate-molybdate method for determination of phosphorus. *Methods of analysis for soils, plants and water.* Calif University, Agriculture. Division, Pp: 184-203.
10. Cornoy, J.P., Virgon, J.M., Smillie, R.M., and Barlow, E.W. 1988. Influence of drought acclimation and CO<sub>2</sub> enrichment on osmotic adjustment and chlorophyll a fluorescence of sunflower during drought. *Plant Physiol.* 186: 1108-1115.
11. Creelman, R.A., Mason, H.S., Bensen, R.J., Boyer, J.S., and Mullet, J.E. 1990. Water deficits and abscisic acid cause differential inhibition of shoot versus root growth in soybean seedlings. *Plant Physiol.* 214: 92-105.
12. Dat, J., Van denabeele, E., Vranova, M., Van Montagu, M., Inze, D., and Van Breusegem, F. 2000. Dual action of the active oxygen species during plant stress responses. *Cell. Mol. Life. Sci.* 57: 779-795.
13. Delfin, S., Tognetti, R., Dsiderio, E., and Alvino, A. 2005. Effect of foliar application of N and humic acids on growth and yield of durum wheat. *Agron Sustain. Dev.* 25: 183-191.
14. Desuloux, D., Huynh, T.T., and Roumet, P. 2000. Identification of soybean plant characteristics that indicate the timing of drought stress. *Crop Sci.* 40: 716-722.
15. Emam, E., and Zavareh, M. 2005. *Tolerate of Drought in Plants.* Tehran University Press, Iran. Pp: 107-108. (In Persian)
16. Hossain, A.B.S., Sears, R.G., Cox, T.S, and Paulses, G.M. 1990. Desiccation tolerance and its relationship to assimilate partitioning in winter wheat. *Crop Sci.* 30: 622-627.
17. Hukmani, P., and Tripathy, B.C. 1994. Chlorophyll biosynthetic reactions during senescence of excised barley (*Hordeum vulgare* L. cv IB 65) leaves. *Plant Physiol.* 105: 1295-1300.
18. Humbeck, K., Quast, S., and Krupinska, K. 1996. Function and molecular changes in the photosynthetic apparatus during senescence of flag leaves from field-grown barley plants. *Plant Cell Environ.* 19: 337-344.
19. Jung, S. 2004. Variation in antioxidant metabolism of young and mature leaves of *Arabidopsis thaliana* subjected to drought. *Plant Sci.* 166: 459-466.
20. Karo, M., and Mishra, D. 1976. Catalase, peroxidase and polyphenol oxidase activity during rice leaf senescence. *Plant physiol.* 57: 315-319.

21. Khavarinejad, R., and Najafi, F. 2000. *Applicatory Plant Physiology*. Tarbiat Moallem Univ. Tehranpress. 342p. (In Persian)
22. Kulshreshtha, S., Mishra, D.P., and Gupta, R.K. 1987. Changes in content of chlorophyll, proteins and lipids in whole chloroplast and chloroplast membrane fractions at different leaf water potentials in drought resistant and sensitive genotypes of wheat. *Photosynthetica*. 21(1): 65–70.
23. Lichtenthaler, H.K., and Wellburn, A.R. 1983. Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. *Biochem. Soc.* 11: 591-592.
24. Marschner, H. 1995. *Mineral Nutrition of Higher Plants*, London: Academic Press, 549-561.
25. Martin, B., and Torres, N.A.R. 1992. Effects of water deficits stress on photosynthesis, its components and component limitations and on water use efficiency in wheat. *Plant Physiol.* 100: 733-739.
26. Martin, I., and Grotewiel, M.S. 2006. Oxidative damage and age- related functional declines. *Mech Ageiny Dev.* 127: 411-423.
27. Martinez, D.E., Luquez, V.M., Bartoli, C.G., and Guiamét, J.J. 2003. Persistence of photosynthetic components and photochemical efficiency in ears of water-stressed wheat (*Triticum aestivum*). *Plant Physiology*. 119: 1-7.
28. Navabpour, S., and Bagherieh Najjar, M.B. 2008. Molecular and biochemical analysis of oxidative stress and UV-B radiation in *Brassica napus*. *J. Agr. Sci. Nat. Res.* 15 (5): 23-33. (In Persian)
29. Navabpour, S., Morris, K., Harrison, E., Makerness, S., and Buchanan-Wollaston, V. 2003. Expression of senescence enhanced genes in response to oxidative stress. *J. Exp.Bot.* 54: 2285-2292.
30. Neill, S.J., Desikan, R., Clarke, A., Hurst, R., and Hancock, J.T. 2001. Hydrogen peroxide and nitric oxide as signaling molecules in plants. *J. Expe.Bot.* 52: 9-17.
31. Pagter, M., Bragato, C., and Brix, H. 2005. Tolerance and physiological responses of phragmites australis to water deficit. *Aquat Bot.* 81: 285-299.
32. Paye, W.A. 2000. Water relations of sparse canopied crops. *Agron. J.* 92: 807-814.
33. Pessarkli, M. 1999. *Hand book of Plant and Crop Stress*, Revised and Expanded, Marcel Dekker, Inc., New York, 1254p.
34. Rodriguez, D.J., Romero-Garcia, J., Rodríguez-Garcia, R., and Sánchez, J.A.L. 2002. Characterization of proteins from sunflower leaves and seeds: Relationship of biomass and seed yield. *Trends Crop New.* 1: 143-149.
35. Saini, H.S., and Wesygate, M.E. 2001. Reproduction development in grain crop during drought. *Adv.Agron.* 68: 60-95.
36. Samet, J.S., and Sinclair, T.R. 2005. Leaf senescence and abscisic acid in leaves of field-grown soybean. *Plant Physiol.* 66: 1164–1168.

37. Schussler, J.R., and Westgate, M.E. 1991. Maize kernel set. *Crop Sci.* 31: 1189-1195.
38. Sharma, P., and Dubey, R.S. 2005. Drought induces oxidative stress and enhances the activities of antioxidant enzymes in growing rice seedlings. *Plant Growth Reg at low water potential: I. sensitivity to reduce assimilates during early kernel growth.* 46: 209-221.
39. Simirnof, N., and Colombe, S.V. 2000. Drought influences the activity of enzymes of the chloroplast hydrogen peroxide scavenging system. *J. Exp. Bot.* 39: 1097-1108.
40. Smikilas, K.D., Mullen, R.E., Carlson, R.E., and Knapp, A.D. 1989. Effect of drought induced seed calcium deficiency on Soybean seed quality. *Crop Sci.* 29: 1519-1523.
41. Steven, J. 1992. Phosphorus Nutrition Influence on Leaf Senescence in Soybean. *Plant Physiol.* 98: 1128-1132.
42. Sunka, R., Bartel, D., Kirch, H.H. 2003. Over expression of a stress inducible dehydrogenase gene from *Arabidopsis thaliana* in transgenic plants improves stress tolerance. *The Plant J. Agr.Sci.* 32: 1. 73-86.
43. Swidzinski, J.A., Leaver, C.J., and Sweetlove, L.J. 2004. A proteomic analysis of plant programmed cell death. *Photochem.* 65: 1829-1838.
44. Synnerri, C.L.M., Pizino, C., and Navari-Izzo, F. 1993. Chemical changes and O<sub>2</sub> production in thylakoid membranes under water stress. *Plant Physiol.* 87: 211-216.
45. Takamiya, K.I. 2000. Degradation pathway(s) of chlorophyll: what has gene cloning revealed? *Trends Plant. Sci.* 5: 426-431.
46. Tatsumi, J. 1982. Growth of crops and transport nitrogen. Growth of crop roots and transport of nitrogen. *Agr.Hortic.Sci.* 57: 637- 638.
47. Turner, N.C., Wright, G.C., and Siddique, K.H.M. 2001. Adaptation of grain legumes (Pulses) to water limited environments. *Adv.Agron.* 71: 193-231.
48. Wolton, W. 2005. Leaf area index and radiation as related to corn yield. *Agron. J.* 65: 459- 461.